Arbeiten des pflanzenphysiologischen Institutes der k. k. Wiener Universität.

XIX. Beiträge zur genaueren Kenntniss der chemischen Beschaffenheit der Zellmembranen bei den Pilzen.

Von Dr. Carl Richter.

I.

Einleitung.

Die Pilzcellulose ist einer jener vegetabilischen Stoffe, für welche man auf Grund des Ausbleibens gewisser Reactionen eine vom gewöhnlichen Zellstoff abweichende Beschaffenheit annahm. Die Berechtigung dieser Annahme erschien um so fraglicher, als gerade für die Pilzcellulose eine mit dem gewöhnlichen Pflanzenzellstoff identische chemische Zusammensetzung behauptet wurde, während bereits in vielen anderen ähnlichen Fällen, wo man jedoch auch eine chemische Verschiedenheit der Substanz nachweisen konnte, wie bei verholzten und verkorkten Membranen, die gewöhnliche Cellulose als Grundlage nachgewiesen war. Gibt man dieser Erwägung Raum, so ist es nicht unwahrscheinlich, dass vielleicht auch bei der Pilzcellulose jene nur verdeckt, aber doch vorhanden ist. In der That gelang es mir, wenn auch nur mit Hilfe grosser Geduld in dem betreffenden Falle ein solches Verhältniss zu constatiren. Bevor ich jedoch zur Besprechung meiner eigenen Untersuchungen schreite, möchte ich durch einen kurzen Überblick der bisherigen Beobachtungen auf diesem Gebiete den Stand der Frage über das Verhältniss der Pilzcellulose zur gewöhnlichen Cellulose, sowie zu den für diese charakteristischen Reactionen etwas genauer präcisiren.

Nachdem Schleiden zuerst erkannt hatte, dass sich der Pflanzenzellstoff unter Einwirkung von Jod (genauer gesagt: wässerige oder weingeistige Jodlösung) und Schwefelsäure blau färbe und H. v. Mohl[1] auf Grund von sehr ausführlichen und genauen Untersuchungen als charakteristische Eigenschaft der reinen Cellulose die Blaufärbung durch Jod allein unter Zutritt von Wasser hingestellt hatte, zeigte Payen,[2] dass die Zellmembranen aller Pflanzen ihrer Grundlage nach aus reiner Cellulose bestehen. Payen[3] gibt gleich anfangs als charakteristische Eigenschaft der reinen Cellulose die oben erwähnte Blaufärbung durch Jod und Schwefelsäure an, ohne jedoch im Verlaufe der Arbeit ihr höheren Werth beizulegen; er erkannte nämlich die Identität des Zellstoffes aus den gleichen Resultaten der chemischen Analysen. Die Resultate dieser Untersuchungen wurden später auch noch durch Fromberg und Mulder[4] bestätigt, und zwar sowohl für höhere Pflanzen als auch für Pilze und Flechten. Doch ist hier die Reaction gegen Jod und Schwefelsäure nirgends erwähnt; auch möge gleich hier bemerkt werden, dass die Mohl'sche Angabe in Betreff der Blaufärbung des Zellstoffes durch Jod allein auf einem Irrthume beruhte, welcher von späteren Forschern[5] dahin erklärt wird, dass sich in Jodlösungen leicht Jodwasserstoffsäure bildet, welche dann die Schwefelsäure oder, in Bezug auf die nun allgemein benützte Chlorzinkjodlösung, das Chlorzink in deren Wirkung ersetzt.

Erst Schacht[6] kommt auf die Jodreactionen wieder zurück und behauptet die Existenz eines Zellstoffes, der sich weder mit Chlorzinkjod noch mit Jod und Schwefelsäure bläut,[7] gibt jedoch an, dass die Wand jugendlicher Zellen immer nur aus reinem

---

[1] Vermischte Schriften, 1846. XXV. N. Abdruck aus der Flora. 1840.

[2] Mém. pres. p. div. savants IX.; Mém. sur les developpements des végétaux III.; auch ein Separatabdruck im Handel.

[3] L. c. p. 6.

[4] Physiologische Chemie I, p. 200 u. ff.

[5] S. Hofmeister, Lehre von der Pflanzenzelle (Handb. d. phys. Bot. I., p. 252 u. ff. und Nägeli und Schwendener, das Mikroskop, Leipzig 1877.

[6] Die Pflanzenzelle 1852 und ein wörtlicher Abdruck im Lehrbuche der Anatomie und Physiologie I.

[7] Die Pflanzenzelle, p. 9.

Zellstoff besteht (der sich blau färbt), während die Zellwand der Pilze und Flechten[1] selbst nach Kochen in Kali durch die genannten Reagentien nicht blau gefärbt wird. Diese Ansicht ist auch nunmehr die herrschende geworden, namentlich seit De Bary[2] diese Beobachtung bestätigt, und obwohl er auf Grund der Analysen von Payen, Fromberg, Schlossberger und Döpping und Anderen Braconot's „Fungin" verwirft, für die Classe der Pilze eine besondere isomere Modification der Cellulose unter dem Namen Pilzcellulose angenommen hat. Diese angeführten Analysen beziehen sich auf mehrere Species der Gattungen *Polyporus* und *Agaricus* und auf *Daedalea quercina*. Wiewohl nun alle diese Pilze ihren Körper aus Cellulose aufbauen, so soll sich diese doch, selbst nach Kochen in Kali oder Schulze'scher Macerationsflüssigkeit, weder durch Chlorzinkjod, noch durch Jod und Schwefelsäure blau färben. Hiedurch, sowie durch ihre Unlöslichkeit in Kupferoxydammoniak und schwere Löslichkeit in concentrirter Schwefelsäure sei die Pilzcellulose von dem gewöhnlichen Zellstoff unterschieden. Doch führt De Bary a. a. O. auch zahlreiche Pilzmembranen an, welche theils mit Jod allein, theils mit Chlorzinkjod die bekannte blaue Farbe annehmen. Interessant ist auch die Angabe desselben Forschers, dass die jugendlichen Membranen zweier *Mucor*-Arten sich mit Jod und Schwefelsäure blau färben, während sie im Alter diese Eigenschaft verlieren.

Weit weniger ausführlich als die Pilze werden die Membranen der Flechtenhyphen behandelt. Die Frage, ob in der sogenannten Rinden- und Markschicht Zellstoff vorhanden ist oder nicht, scheint noch nicht näher untersucht worden zu sein. Man findet nur allenthalben die Angabe, dass die Membranen von *Cetraria islandica* sich durch Jod allein bläuen, diese Blaufärbung, welche jedoch von eingelagertem Lichenin herrührt, wird auf Zusatz von Schwefelsäure, die übrigens den Flechtenthallus grösstentheils zerfliessen macht, noch intensiver. Die Gonidien der Flechten, für welche bereits von De Bary[3] Cellulosereaction constatirt

---

[1] L. c. p. 13.

[2] Morphologie der Pilze, Flechten und Myxomyceten (Hofmeister, Handb. d. phys. Bot. II, p. 7 u. ff.).

[3] L. c. p. 258.

wurde, können wohl nach der modernen Anschauung, nach welcher die Flechten nichts anderes sind, als von Pilzgeweben durchdrungene Algenthallome, hier nicht besonders in Betracht kommen; wohl aber erscheint man nach dieser Theorie berechtigt, die Hyphen derselben bei Besprechung der Pilze in den Untersuchungskreis mit einzubeziehen. Dippel[1] nimmt zur Erklärung der Pilzcellulose an, dass der Zellstoff bei den Pilzen in einem so zu sagen rudimentären Zustand bleibt, indem nach seinen Beobachtungen auch die Membranen ganz junger Zellen der Phanerogamen die Zellstoffreactionen nicht zeigen. Es ist dies, nebst einer Angabe von Solla,[2] dass sich Zellen an der Vegetationsspitze von *Zea*, *Phaseolus* und *Vicia* mit Jod und Schwefelsäure nicht bläuen, die einzige Bemerkung, welche ich in der doch so überaus reichhaltigen Literatur über diesen Gegenstand, in Betreff einer doch so interessanten Thatsache auffinden konnte. Überall sonst findet man die Schacht'sche Angabe wiederholt, dass die jugendlichen Zellmembranen aus reiner Cellulose bestehen.

Diese wenigen Daten mögen genügen, um zu zeigen, wie verwirrt die Angaben der Literatur über die Natur des Pflanzenzellstoffes noch sind und dass die Untersuchungen über diesen wichtigen Gegenstand noch durchaus nicht als geschlossen zu betrachten sind, vielmehr treten uns folgende, noch ungelöste Fragen entgegen:

1. Ist die erste aus dem Protoplasma sich abscheidende Membranschicht Cellulose?
2. Existirt eine Pilzcellulose im Sinne De Bary's?

Diese letztere Frage erscheint um so berechtigter, als ja, wie schon oben bemerkt, zahlreiche Substanzen (Holzsubstanz, Suberin) bekannt sind, welche die Reactionen der reinen Cellulose verhindern, und die Pilzcellulose sich nur dadurch von der gewöhnlichen Cellulose unterscheiden soll, dass eben diese Reactionen ausbleiben. Es liegt somit die Vermuthung nahe, dass dieses Verhalten durch die Gegenwart einer Substanz in den aus gewöhnlicher Cellulose bestehenden Membranen der Pilze hervor-

[1] Das Mikroskop. II, p. 7—8.

[2] Beiträge zur näheren Kenntniss der chemischen und physikalischen Beschaffenheit der Intercellularsubstanz. Österr. Bot. Zeitschrift 1879, p. 351.

gerufen wird, welche in ähnlicher Weise wie Lignin und Suberin die genannten Reactionen verhindert.

II.

Eigene Untersuchungen.

Was zunächst die jugendlichen Gewebe der Phanerogamen betrifft, welche nach Dippel und Solla keine Zellstoffreaction zeigen, ist zu bemerken, dass in der That die Gewebe zarterer Keimlinge, sowie die meristematischen Gewebe der Vegetationsspitze und des Cambiums oft direct keine Blaufärbung durch Jod und Schwefelsäure oder durch Chlorzinkjodlösung zeigen. Behandelt man jedoch diese Gewebe früher mit Salzsäure oder mit Kalilauge, so erhält man auch nach ganz kurzer Einwirkung der genannten Reagentien stets sofort eine intensive Blaufärbung durch Chlorzinkjod. Diese Bläuung lässt sich auch dadurch hervorrufen, dass man die betreffenden Keimlinge für einige Zeit in Wasser legt, in welchem Fäulnissprocesse stattfinden; ja selbst ein kräftiges Quetschen der Gewebe zwischen zwei Objectträgern ermöglicht das Eintreten der Zellstoffreaction.

Aus diesen Beobachtungen geht auf das Klarste hervor, dass die Grundlage der Zellmembranen auch schon in diesem jugendlichen Zustande der Zellen bereits aus Cellulose besteht, die gewöhnlichen Reactionen derselben aber durch irgend welche der Cellulose beigemengte oder dieselbe umhüllende Substanzen verhindert werden. Mögen nun diese Substanzen, wie schon Solla vermuthete, infiltrirte Eiweissstoffe oder irgend welche andere Dinge sein, so viel steht fest, dass sich die der Reaction entgegenstehenden Hindernisse in vielen Fällen sehr leicht, z. B. auf dem rein mechanischen Wege des Quetschens, in anderen nur schwieriger beseitigen lassen. Die Beobachtung Solla's, dass Essigsäure die Reaction nicht ermöglicht, kann ich bestätigen, dagegen muss ich bemerken, dass Kalilauge oder Salzsäure stets diesen Dienst erfüllen. Schon dieser Umstand muss uns zur Überzeugung bringen, dass eine Identificirung dieser jugendlichen Zellmembranen mit der „Pilzcellulose“ De Bary's, wie sie Dippel versucht, sehr gewagt ist, da ja letztere nach der ausdrücklichen Angabe des genannten Forschers selbst nach Kochen

in Kali oder im Schulze'schen Macerationsgemisch die obgenannte Blaufärbung nicht zeigen.

Immerhin war es jedoch nicht uninteressant, zu untersuchen, ob die sogenannte Pilzcellulose nicht vielleicht doch durch irgendwelche Behandlung dazu gebracht werden könnte, die Reactionen des gewöhnlichen Zellstoffes zu zeigen. Diese Vermuthung gewann von vornherein noch durch den Umstand an Wahrscheinlichkeit, dass ja nach De Bary's eigener Angabe auch gewöhnlicher Zellstoff bei den Pilzen vorkommt, ja dass nicht nur Arten ein und derselben Gattung *(Clavaria)*, sondern auch verschiedene Altersstufen ein und derselben Art *(Mucor Mucedo* und *fusiger)* ein verschiedenes Verhalten gegen Jod und Schwefelsäure zeigen, indem sich einige derselben blau färben, andere nicht.

Es war nun zunächst die Frage, welche Mittel hier mit Erfolg anzuwenden wären. Wie nach De Bary's Angaben zu erwarten war, hatte Kochen in Kali und in Schulze'scher Macerationsflüssigkeit gar keinen Effect, auch Maceration in Chromsäure lieferte nicht das gewünschte Resultat. Ich versuchte daher jenes Verfahren, welches in den Handbüchern zur Darstellung reiner Cellulose aus den Geweben der Phanerogamen empfohlen wird. Ich behandelte nämlich dasselbe Material, was ich bisher verwendet hatte, nämlich Stücke eines *Polyporus*,[1] der Reihe nach mit Wasser, heissem Kali, Essigsäure oder Salzsäure, Weingeist, Äther und schliesslich wieder mit kochendem Wasser. Ausserdem legte ich Stücke desselben Pilzes in verdünnte Salzsäure (1 Vol. Salzsäure auf 9 Vol. Wasser), da dieser Stoff nach Husemann[2] nach 8—14 Tagen ebenfalls den Zellstoff von allen fremden Beimengungen reinigen soll. Weder in dem einen, noch in dem anderen Falle kam ich zum Ziele, erst als ich die oben genannten Reagentien ein zweites Mal der Reihe nach anwendete und jedes derselben mehrere Tage hindurch einwirken liess, zeigten die mit Säuren von Kali gereinigten Stücke in einzelnen Hyphen entschiedene Blaufärbung durch Chlorzinkjod.

War aber nunmehr durch diesen Erfolg die vorliegende Frage auch im bejahenden Sinne beantwortet, so drängte sich

[1] Wahrscheinlich P. Ribes, die Species konnte ich nicht genau ermitteln.

[2] Pflanzenstoffe, p. 569.

auch sofort der Gedanke auf, ob nicht auch ein einzelnes der angewandten Reagentien den gewünschten Erfolg erziele, und ob auch andere Pilze unter ähnlichen Verhältnissen die Zellstoffreaction zeigen. In der That zeigten Stücke desselben Pilzes, welche längere Zeit in Kali gelegen waren, ebenfalls Zellstoffreaction; der Umstand, dass diese deutlicher auftritt, wenn die Kalilauge mit einer schwachen Säure statt mit destillirtem Wasser ausgewaschen wird, hat seinen Grund nur darin, dass hier die alkalische Reaction des Präparates nicht so vollständig beseitigt wird wie dort, da ja, wie bekannt, die Jodreaction durch alkalische Substanzen in Folge der Bildung von Jodalkalien aufgehoben wird. Dass die Säuren in vorliegendem Falle ohne wesentliche Wirkung sind, zeigt auch das Missglücken des oben erwähnten Versuches der Reinigung der Pilzcellulose mittelst verdünnter Salzsäure, obschon die Pilzstücke nicht nur 8—14 Tage, sondern über vier Wochen lang in der Flüssigkeit belassen wurden, sowie das Verhalten der Gewebe von *Agaricus campestris* gegen Säuren. Dieser Pilz zeigte sich nämlich gegen Essigsäure so unempfindlich, dass Stücke desselben selbst nach mehrmonatlichem Liegen in der genannten Säure fast gar keine Veränderung ihrer Textur, geschweige denn eine Zellstoffreaction zeigten, während Salzsäure die Gewebe vollständig zerstörte, bevor eine Zellstoffreaction zu erzielen war; eine Erscheinung, welche wohl mit A. Kaiser's Beobachtung,[1] dass die Cellulose des Strunkes von *Amanita muscaria* in Salzsäure löslich sei, in Verbindung gebracht werden kann. Da auch die Gewebe des genannten *Agaricus* nach längerem Liegen in Kalilauge[2] unter Einwirkung von Chlorzinkjod sich blau färbten, so hatte ich Aussicht, dass auch noch eine grössere Anzahl von Pilzen die Zellstoffreaction zeigen würden, wenn sie entsprechend vorbehandelt worden wären.

Nachdem ich mich noch davon überzeugt hatte, dass die angeführten Pilzgewebe auch gegen Jod und Schwefelsäure und Kupferoxydammoniak[3] sich wie gewöhnliche Cellulose ver-

---

[1] S. De Bary, l. c. p. 7.

[2] Wenn nicht ausdrücklich Anderes bemerkt ist, wurde eine 7—8percentige Lauge verwendet.

[3] Ich komme auf die Besprechung dieser Reaction in den Schlussbemerkungen zurück.

halten, ging ich nun daran, noch andere Pilze in der genannten Richtung zu prüfen und auch in Betreff der Dauer der Einwirkung des Kalis, sowie des Einflusses einer verschiedenen Concentration der Lauge genauere Beobachtungen anzustellen. Ich fand bei dieser Gelegenheit, dass verschiedene Pilze sich sehr verschieden verhielten. So zeigte *Agaricus campestris* schon nach wenigen Tagen eine leichte rosenrothe Färbung der Zellmembranen durch Chlorzinkjod, welche sich nach etwa drei Wochen in die gewöhnliche durch Jod und Schwefelsäure hervorgerufene blaue Farbe des Zellstoffes verwandelte, während ich diese rosa Farbe bei keinem anderen von mir untersuchten Pilze beobachtete. Es scheint mir jedoch nicht unwahrscheinlich, dass der von De Bary[1] citirten Angabe von Coemans, dass die Membranen einiger Mucorineen sich mit Chlorzinkjod rosenroth färben, eine ähnliche Erscheinung zu Grunde liege. Bei stärkerer Verdünnung wirkte die Lauge weit langsamer und schwächer, und trat die Reaction zuerst in dem Gewebe des Hymeniums, dann in dem des Hutes und zuletzt in dem des Strunkes auf. Eine wesentliche Beschleunigung des Eintrittes der Reaction ist durch möglichst oftes Wechseln der Kalilauge zu erlangen, immerhin jedoch dauert es zwei bis drei Wochen, bisweilen noch länger, bis dieselbe klar zu Tage tritt, und es ist somit nicht zu wundern, dass die Möglichkeit, sie zu erzielen, so lange verborgen blieb, um so mehr, als durch Kochen in Kali, selbst wenn dieses durch sechs volle Stunden fortgesetzt wird, kein Erfolg zu erzielen ist. Dagegen scheint es nach meinen Beobachtungen von Nutzen zu sein, bereits längere Zeit mit Kalilauge behandelte Stücke in dieser Flüssigkeit zu kochen. Da ich auf die Wirkung des kochenden Kalis noch zurückkomme, mögen die Bemerkungen über *Agaricus campestris* einstweilen ihren Abschluss finden, und ich gehe zur Besprechung des Verhaltens einiger anderer Pilze über.

Was zunächst den bereits früher besprochenen *Polyporus* betrifft, so zeigte derselbe nach vierwöchentlichem Liegen in Kali die gewünschte Reaction. Es war dies überhaupt einer der gefügigsten der von mir geprüften Pilze. Weit schwieriger war es, seinen Gattungsgenossen *P. fomentarius,* den gewöhnlichen

[1] L. c. p. 8.

Feuerschwamm zu der gewünschten Reaction zu bewegen, obwohl ich hier den schon zubereiteten Pilz, wie er im Handel vorkommt, der somit aller Wahrscheinlichkeit nach schon von einigen verunreinigenden Substanzen befreit war, verwendete. Trotz wiederholtem Wechseln der Kalilauge dauerte es hier über sechs Wochen, bis sich endlich auch die dicken Wände der Hyphen dieses Pilzes mit Chlorzinkjod dunkelblau färbten. Bei diesem Pilze wandte ich auch das Schulze'sche Macerationsgemisch sowohl kalt, als in kochendem Zustande an, jedoch ohne allen Erfolg. Das einzige Resultat, welches ich erhielt, war, dass die Hyphen des Pilzes zu einer gallertartigen Masse verschmolzen, welche die ursprüngliche Structur kaum mehr erkennen liess und sich mit Jod braun färbte. Günstiger als hier war der Erfolg dieses Gemenges bei *Daedalea quercina*, welche sowohl nach längerem, allerdings bis zum gänzlichen Zerfall des Körpers fortgesetztem Kochen in genannter Flüssigkeit, als auch bei abwechselnder Behandlung mit dem Gemische und mit Kali — hier jedoch nur eine schwache — Violettfärbung durch Chlorzinkjod erfuhr. Im Übrigen ist dieser Pilz entschieden der hartnäckigste, welcher mir in die Hände kam. Kein Wechseln der Lauge, kein Kochen in derselben vermochten nach vollen dritthalb Monaten eine Reaction zu ermöglichen und selbst gegen das genannte Macerationsgemisch zeigte der in Rede stehende Pilz eine Resistenzfähigkeit, welche aller Beschreibung spottet. Auch Chromsäure greift die Gewebe dieses Pilzes nur sehr langsam an, und ermöglichte in den von mir beobachteten Fällen nie eine Zellstoffreaction.

Ausser diesen der Ordnung der Hymenomyceten angehörigen Pilzen, untersuchte ich auch noch einige andere, die mir jedoch insoferne von geringerer Bedeutung schienen, als die genannten, da letztere sämmtlich der Reihe derjenigen entnommen sind, auf Grund deren Untersuchung De Bary die Pilzcellulose als besondere Modification des Pflanzenzellstoffes aufstellte.

Unter diesen anderen von mir untersuchten Pilzen war es zunächst das Mutterkorn, welches meine Aufmerksamkeit auf sich zog, da es als sehr häufiger und zugleich officineller Pilz wohl das allgemeinste Interesse hat und Jedermann und zu allen Zeiten leicht zugänglich ist. Ich kam hier ziemlich rasch zum Ziel. Nach

etwa zwei Wochen, welche die Sclerotienstücke in Kali verbracht hatten, zeigte sich eine sehr deutliche Violettfärbung durch Chlorzinkjod. Doch empfiehlt es sich hier, den Pilz zuerst durch Auswaschen mit Äther und absolutem Alkohol etwas von der bekanntlich sehr grossen Menge des hier aufgespeicherten Fettes zu reinigen.

Bei *Mucor* war es mir nicht möglich, ein sicheres Resultat zu erzielen, doch schien mir ein solches hier von geringerem Werthe, da schon De Bary für jugendliche Zustände dieser Schimmelpilze Zellstoffreaction constatirt; es ist also wohl anzunehmen, dass durch längere und sorgfältige Behandlung mit Macerationsmitteln auch hier jederzeit die genannte Reaction zu erzielen sei. Auch bei der Hefe war es mir nicht möglich, mit voller Sicherheit eine Zellstoffreaction zu constatiren, obwohl ich an Zellen, welche etwa zwei Monate in Kalilauge gelegen waren, auf Zusatz von Chlorzinkjod eine leichte Blaufärbung beobachtete und diese wohl auf Rechnung der vorhandenen Cellulose zu schreiben sein dürfte. Da jedoch bei den stets vorhandenen fremden Beimengungen in der Hefe und der bei stärkeren Objectivsystemen in der Regel nicht vollständig beseitigten chromatischen Abweichung eine optische Täuschung sehr leicht möglich ist, halte ich es überhaupt für sehr schwer, bei so kleinen Organismen die gewünschte Reaction mit voller Sicherheit zu constatiren und sah daher auch von der Untersuchung anderer ähnlicher einzelliger Organismen ab, obwohl Suringar's[1] Beobachtung, dass bei der Gattung *Sarcina* gewöhnlicher Zellstoff auftrete, ein günstiges Resultat erwarten liess.

Interessanter als bei diesen Pilzen gestaltete sich die Untersuchung der Flechten. Diese hat insoferne bedeutende Schwierigkeiten, als das bei manchen Arten dieser Pflanzengruppe in grösserer Menge auftretende Lichenin durch Annahme der blauen Färbung durch Jod sehr leicht zu Täuschungen Veranlassung geben kann. Flechten, die diesen Stoff in grösserer Menge enthalten, sind von vornherein nicht als Material zu unseren Untersuchungen zu verwenden. Dieser Umstand ist es, welcher die bekannteste der Flechten, nämlich das sogenannte isländische

[1] Bot. Zeitung, 1866.

Moos (*Cetraria islandica*) zu diesem Zwecke unbrauchbar macht, dagegen zeigten sich zwei Arten der Gattung *Cladonia* geeignet hiezu. (Die hier gemachten Angaben beziehen sich selbstverständlich nur auf die Hyphen des Flechtenthallus, da ja bekanntlich die Gonidien stets Zellstoffreaction zeigen.) Es stand mir bei diesen Untersuchungen nur getrocknetes Material zu Gebote; es ist mir daher nach den weiter unten zu besprechenden Beobachtungen an *Agaricus* nicht unwahrscheinlich, dass ich hier grössere Schwierigkeiten zu bekämpfen hatte als bei frischem. Trotzdem gelang es mir, auch hier durch geduldiges Warten und wiederholtes Wechseln der Kalilauge schliesslich die gewünschte Reaction hervorzurufen, doch dauerte es auch hier 4—6 Wochen, bis ich zum Ziele gelangte. Bemerkt mag noch werden, dass ich bei *Cladonia gracilis* bei Anwendung von Jod und Schwefelsäure in verhältnissmässig kurzer Zeit eine rothviolette Färbung erhielt, ungefähr wie die, welche die Cellulose gewöhnlich durch Chlorzinkjod annimmt, während letzteres Reagens keine Bläuung hervorrief; es scheint somit, dass in diesem Falle die früher genannten Mittel kräftiger und rascher wirken als letzteres. Meine Vermuthung, dass vielleicht auch hier vorhandenes Lichenin diese Erscheinung hervorrufe, wurde durch genauere Untersuchung dieses Körpers, sowie durch das Nichteintreten der Blaufärbung durch Jod allein genügend widerlegt.

Diese wenigen Beobachtungen zeigen wohl zur Genüge, dass in zahlreichen Fällen, in welchen man bisher Pilzcellulose annahm, gewöhnliche Cellulose vorhanden ist, und es erscheint mir sehr wahrscheinlich, dass durch entsprechende Behandlung bei allen Pilzen die Zellstoffreaction zu ermöglichen und dass die Pilzcellulose nichts Anderes sei, als Cellulose, welche mit Substanzen gemengt ist, welche in ähnlicher Weise wie Suberin und Lignin die Reaction gegen Jod und Schwefelsäure, sowie die Löslichkeit in Kupferoxydammoniak verhindern. Welche Stoffe jedoch Ursache hievon sind, ist eine Frage, deren Entscheidung sehr grosse Schwierigkeiten bereitet. Die ausserordentliche Resistenz, welche alle Pilzmembranen den einwirkenden chemischen Mitteln entgegensetzen, und welche De Bary sogar veranlasste, eine eigene Form des Zellstoffes bei den Pilzen anzunehmen, dürfte im gesammten Pflanzenreiche

wohl nur wenige Analoga finden. Ausser der schon oben besprochenen Widerstandsfähigkeit von *Daedalea* möge hier noch das Verhalten von *Mucor* gegen Kali als Beleg für obige Behauptung angeführt werden. Dieser Pilz war nämlich von keimungsunfähig gewordenen und so verschimmelten Samen genommen, welche zur Keimung auf nassem Fliesspapier gelegen waren. Bei der Entfernung des Pilzes von der Unterlage waren einige Partikel des Papieres an den Hyphen haften geblieben, welche, wie die nachherige Untersuchung zeigte, kleine Holzstückchen enthielten. Das Holz zeigte anfangs keine Spur einer Zellstoffreaction; später jedoch färbten sich die Holzpartikeln bereits intensiv blau mit Chlorzinkjod, während bei den Schimmelpilzen noch nicht die geringste Andeutung einer derartigen Färbung zu sehen war.

Abgesehen von der grossen Resistenz der Pilzmembranen deutet aber das verschiedene Verhalten verschiedener Pilze auf das Bestimmteste darauf hin, dass der Eintritt der Zellstoffreaction nicht überall durch dieselben Stoffe verhindert werde. Für die zarteren und weichen Gewebe war es z. B. nicht unwahrscheinlich, dass eingelagerte Eiweisskörper es sind, welche die Reaction stören, während für die harten Körper von *Polyporus* und *Daedalea* wohl eher eine Verholzung oder Verkorkung wahrscheinlich erschien.

Was zunächst die schon von De Bary[1] vermuthete Verholzung gewisser Pilze betrifft, so wurde schon von Burgerstein[2] mit Hilfe des mittlerweile von Wiesner entdeckten Reagens für Holzsubstanz, nämlich des schwefelsauren Anilins, nachgewiesen, dass bei Pilzen und Algen keine Verholzung der Zellmembranen auftritt. Neuerdings wurde von Wiesner[3] in Phlorogluein und Salzsäure ein noch viel empfindlicheres Reagens auf Holzstoff aufgefunden, und ich untersuchte nun auch mit diesem die betreffenden Pilzmembranen, konnte jedoch nicht die

[1] L. c. p. 9.

[2] Untersuchung über das Vorkommen und die Entstehung des Holzstoffes in den Geweben der Pflanzen. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1874, Bd. 70.

[3] Note über das Verhalten des Phlorogluceins und einiger verwandter Körper zur verholzten Zellmembran. Sitzungsber. der Wiener Akad. 1878, Bd. 77.

leiseste Andeutung der doch so auffallenden rothen Färbung, welche diese Stoffe bei Gegenwart von Holzsubstanz hervorrufen, beobachten. Von einer eigentlichen Verholzung kann somit wohl nicht die Rede sein; auch bei den Flechten, für welche Wiesner[1] und Burgerstein[2] eine schwache Gelbfärbung durch schwefelsaures Anilin beobachteten und aus dieser auf eine Verholzung schliessen, kann ich dieselbe nach meinen Beobachtungen bei Anwendung von Phloroglucin und Salzsäure nicht wohl gelten lassen.

Mit weniger Sicherheit kann ich mich in der Frage über das Vorhandensein von Eiweisskörpern in den Zellwänden und die durch diesen Umstand hervorgerufene Verhinderung der Zellstoffreaction aussprechen, denn selbst das Vorhandensein dieser Körper vorausgesetzt, ist noch nicht mit Bestimmtheit zu sagen, dass sie es sind, welche die Reaction verhindern, da eben diese Verhinderung für Eiweisskörper noch nicht einmal nachgewiesen werden konnte. Dass in den Geweben von *Agaricus campestris* eine grosse Menge dieser Körper enthalten ist, kann ich allerdings mit Gewissheit sagen, indem die Raspail'sche Reaction (auf Zuckerlösung und Schwefelsäure) dies ausser allen Zweifel stellte. Es schien mir auch die Wand der Hyphen gefärbt zu werden, doch möchte ich diese Beobachtung nicht als unumstösslich hinstellen, da hier selbst bei der grössten Sorgfalt und Vorsicht eine Täuschung sehr leicht möglich ist und die Wände zweifellos schwächer gefärbt waren als der Inhalt der Zellen. Immerhin möchte ich mich sowohl auf diese Beobachtung hin, als nach dem Verhalten der Pilzstücke gegen Kali, eher für als gegen die Annahme aussprechen, dass die Eiweisskörper zu dem Nichteintreten der Zellstoffreaction in Beziehung stehen.

Behandelt man nämlich Stücke des genannten Pilzes mit Kalilauge, so zeigt die Flüssigkeit nach ein bis zwei Tagen einen intensiven Geruch nach Trimethylammin;[3] erst wenn dieser Geruch sich verliert und einem anderen, etwa dem der Blüthen

[1] Rohstoffe des Pflanzenreiches, Leipzig 1873, p. 30.

[2] A. oben angef. Orte.

[3] Ich weiss nicht, ob das Vorhandensein dieses Körpers im genannten Pilze schon nachgewiesen ist, doch erscheint mir dies bei der grossen Verbreitung desselben nicht besonders wichtig.

von *Prunus padus* ähnlichen Platz macht, tritt die Zellstoffreaction ein. Ist die Sache so weit gediehen, so lassen sich mit Hilfe von an einem Glasstabe darüber gebrachter Salzsäure reichlich aus der Flüssigkeit entweichende Ammoniakdämpfe nachweisen. Spricht nun schon dieser Umstand dafür, dass es hauptsächlich stickstoffhaltige Substanzen sind, welche durch das Kali zersetzt werden, so schien mir auch noch der Umstand speciell für Eiweisskörper zu sprechen, dass kurzandauerndes Kochen frischer Stücke in Kali zu keinem Resultate führt. Ja ich fand sogar, dass, obwohl die oben erwähnte Rosafärbung auf Zusatz von Chlorzinkjod zwar nach etwa halbstündigem Kochen auftritt, sie nach einiger Zeit wieder verschwindet, ohne sich in das durch dasselbe Reagens hervorgerufene, für Zellstoff charakteristische Blau zu verwandeln. Die Hyphen zeigen dann ein ganz eigenthümlich granulirtes Aussehen, ohne im Übrigen Macerationserscheinungen erkennen zu lassen. Der erwähnte eigenthümliche Geruch bleibt hier aus, ebenso wie wenn man die Pilzstücke vor der Behandlung mit Kali ihres grossen Wassergehaltes (bei 90%) bei 80—100° C. beraubt; auch in diesem Falle konnte ich keine Zellstoffreaction erzielen. Es sind dies lauter Umstände, welche mir darauf hinzudeuten scheinen, dass das nunmehr coagulirte Eiweiss sowohl der Zerstörung durch Kali, als der Einlagerung von Jod in die Zellmembran Widerstand leistet.

Mit mehr Sicherheit als hier kann ich über meine Untersuchungen bei *Daedalea* sprechen. Hier brachte mich schon die auffallende physikalische Ähnlichkeit des Gewebes mit Kork auf den Gedanken, ob man es hier nicht mit einem verkorkten Gewebe zu thun habe. Die charakteristische Eigenschaft der Korkgewebe, nämlich das Vorhandensein von Suberin neben der Cellulose, ist durch das bereits von Schacht[1] entdeckte und neuerdings durch Höhnel's[2] Untersuchungen vollständig klargestellte Verhalten dieser Substanz gegen Salpetersäure und chlorsaures Kali, in welcher Mischung suberinhaltige Körper beim Kochen, die in genannter Flüssigkeit unlösliche Cerinsäure ausscheiden, im Ganzen leicht nachzuweisen. In der That

[1] Lehrb. der Anat. und Phys., I, p. 295.

[2] Über den Kork und verkorkte Gewebe überhaupt. Sitzungsber. d. Wiener Akad., 76. Bd.

zeigte nun das Gewebe von *Daedalea* bei dieser Untersuchung im Wesentlichen ganz dasselbe Verhalten wie der gewöhnliche Flaschenkork; auch in der Beziehung stimmte *Daedalea* mit dem Korke überein, dass man zum Nachweise des Zellstoffes am besten ein caustisches und ein oxydirendes Mittel anwendet, wie Haberlandt[1] schon für den Kork nöthig gefunden hatte. Setzt man bei *Daedalea* das Kochen in Schulze'schem Macerationsgemisch bis zum gänzlichen Zerfall des Gewebes fort, so gelangt man allerdings hier auch mit diesem Mittel allein zum Ziele, was wohl darin seinen Grund hat, dass die Verkorkung hier nicht so stark entwickelt ist, als beim gewöhnlichen Korke, worauf auch schon die verhältnissmässig geringere Menge der sich ausscheidenden Cerinsäure hindeutet. Dass sich bei *Daedalea* ausser der eigentlichen wachsartigen Cerinsäure noch ein anderer, dem äusseren Ansehen nach verschiedener Körper (er zeigte nicht das wachsartige Aussehen der Cerinsäure, sondern fiel als Pulver aus der Lösung heraus) nachweisen lässt, wenn man den auf einem Filter gesammelten und mit destillirtem Wasser ausgewaschenen Rückstand mit Äther auslaugt, kann wohl, bei dem Umstande, dass das Vorhandensein des Suberins ausser Zweifel steht, höchstens eine Modification der Verkorkung anzeigen, um so mehr als besagter Körper sowohl in den Löslichkeitsverhältnissen (unlöslich in Wasser, Säuren, Schwefelkohlenstoff, Benzol und Terpentin, leicht löslich in Äther und Alkohol) als in der Höhe des Schmelzpunktes (55—60° C.) mit der Cerinsäure übereinstimmt, die Verschiedenheit beider also möglicherweise rein äusserlich ist.

III.

Schlussbemerkungen und Zusammenfassung.

Zum Schlusse sei mir noch gestattet, einige Bemerkungen über die Art und Weise, die vorliegenden Resultate zu erzielen, zu machen. Ich halte es nämlich nach meinen Erfahrungen für dringend geboten, für denjenigen, welcher diese Versuche wiederholen will, noch Einiges beizufügen.

---

[1] Über die Nachweisung der Cellulose im Korkgewebe. Österr. bot. Zeitschrift, 1874.

Vor Allem sei bemerkt, dass dieselben viel Geduld und Ausdauer erfordern. Ich kann es nur dem glücklichen Zufalle, dass ich anfangs mit günstigem Materiale arbeitete, zuschreiben, dass es mir überhaupt gelang, in den Pilzgeweben gewöhnlichen Zellstoff nachzuweisen. Nach meinen Erfahrungen ist es durchaus nicht zu verwundern, dass man bisher für die Pilze eine eigene Modification des Zellstoffes annahm. Holz und Kork schon hatten den Versuchen, Zellstoff darin nachzuweisen, bedeutenden Widerstand entgegengesetzt; dieser Widerstand verschwindet jedoch gegenüber der Hartnäckigkeit der Pilze, und es ist allen jenen, welche an Pilzgeweben Zellstoffreactionen beobachten wollen, dringend zu empfehlen, sich durch einen oder den anderen missglückten Versuch nicht abschrecken zu lassen, da, wie ich mich zu wiederholten Malen zu überzeugen Gelegenheit hatte, selbst die individuelle Beschaffenheit der Pilze hier in Betracht kommt. Ich habe es aus diesem Grunde absichtlich vermieden, die Zeit, welche die Pilze in Kalilauge zubrachten, bis auf Tag und Stunde anzugeben, indem wohl jede solche Angabe nur für den betreffenden Fall Giltigkeit hätte. Im Übrigen kann ich nur wiederholen, dass häufiges Wechseln der Kalilauge, sowie, nach längerer Einwirkung derselben, Erhitzen bis zum Kochen beschleunigend wirkt. Jedenfalls muss man aber 2—3 Wochen, sehr häufig auch noch viel länger, warten, bis die Reaction eintritt.

Ausserdem sei noch bemerkt, dass ich über die Reaction des Zellstoffes gegen Kupferoxydammoniak absichtlich nicht ausführlich sprach, obwohl dieselbe in allen von mir untersuchten Fällen mit der Jodreaction Hand in Hand ging; doch scheint es mir nicht möglich, die den Zellstoff verunreinigenden Substanzen so vollständig zu entfernen, dass wir in der That reine Cellulose vor uns haben, indem sich in der Regel einzelne Partien des Gewebes weit intensiver färbten als andere. Es schien daher gerathen, wollte man die Jodreaction und die Löslichkeit in Kupferoxydammoniak gleichzeitig prüfen, dies an demselben Präparat zu thun. Hier musste aber zuvor das Jod vollständig entfernt werden und die Aufmerksamkeit einzelnen Partien des Gewebes zugewendet werden, was bei der beim Auswaschen unvermeidlichen Verschiebung derselben Täuschungen überaus leicht möglich macht. Ich sah daher nach den ersten positiven

Resultaten von dieser Reaction ab, da mir diese durch irgendwelche negative nicht im Geringsten entkräftet zu werden schienen.

Überhaupt dürfte das Gesagte hinreichend zeigen, dass eine Pilzcellulose im Sinne De Bary's nicht existirt, indem es mir eben bei einer Anzahl von Pilzen, deren Untersuchung den genannten Forscher zur Aufstellung der Pilzcellulose veranlasste, gelang, die Reactionen des gewöhnlichen Zellstoffes auf das klarste zu zeigen. Die Annahme einer eigenen Modification des Zellstoffes war ein Irrthum, welcher sich aus der ganz erstaunlichen Resistenz der Pilzgewebe in der einfachsten Weise erklärt.

Die Resultate dieser Arbeit lassen sich in aller Kürze folgendermassen zusammenfassen: Die Pilzcellulose ist nichts anderes als gewöhnliche Cellulose mit fremden Beimengungen (möglicherweise in erster Reihe Eiweisskörper). Verholzung der Zellwand lässt sich bei den Pilzen mit Einschluss der Flechten nicht constatiren, dagegen gelang es, die Verkorkung, d. h. Suberingehalt des Gewebes von *Daedalea* nachzuweisen.

Schliesslich sei mir noch gestattet, meinem verehrten Lehrer, Herrn Professor Dr. Julius Wiesner, sowie dessen Assistenten, Herrn Dr. Carl Mikosch für ihre mir stets bereitwilligst gewährte Unterstützung meinen besten Dank auszusprechen.
